

追加で必要となる製品

製品名 ¹	カタログ番号
Anti-DIG-AP, Fab fragments	1 093 274
Nylon Membranes, Positively Charged	1 209 299
Ready-to-use CDP- <i>Star</i>	2 041 677
DIG Wash and Block Buffer Set	1 585 762
¹ これらの製品に関する詳細な情報については、第 2 章または付録 E のご注文情報を参照ください。	

6.1 アッセイの概要

PCR DIG ラベリング混合液を用いて調製された DNA の直接免疫検出には、以下の実験ステージにより行われます。

ステージ	操作の説明	所要時間
A	PCR DIG Labeling Mix を含む反応混合液を用いた PCR により、ターゲット DNA を増幅させます ¹ 。	約 2 時間
B	試料をアガロースゲル分離します (TBE または TAE バッファー中で)。	30 分間 ～ 2 時間
C	分離された DNA 増幅産物を、キャピラリートランスファーによりポジティブチャージのナイロンメンブレンにトランスファーします ² 。 ノート：トランスファー前に DNA を変性させる必要はありません。	オーバー ナイト
D	DIG ラベルされたターゲット DNA を、アルカリホスファターゼ標識抗 DIG 抗体および CDP- <i>Star</i> アルカリホスファターゼ化学発光基質を用いて検出します ² 。 ノート：検出操作には、DIG Wash and Block Buffer Set も使用されます。	約 2.5 時間
E	X-線フィルムまたはイメージャーを用いて化学発光のシグナルを記録します。	5 ～ 20 分間

¹ 直接ラベリング操作の詳細については、PCR DIG Labeling Mix, Cat. No. 1 585 550 の取扱説明書を参照ください。この取扱説明書は、弊社のウェブサイト (<http://www.roche-applied-science.com>) でもご覧いただけます。

² これらの製品に関する詳細な情報については、第 2 章のセクション 3.1, 4.1 を参照ください。